



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114787145 B

(45) 授权公告日 2024. 03. 26

(21) 申请号 202080080848.3

A61P 35/00 (2006.01)

(22) 申请日 2020.11.27

A61P 37/00 (2006.01)

A61K 31/4725 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 114787145 A

(56) 对比文件

(43) 申请公布日 2022.07.22

CN 103764655 A, 2014.04.30

CN 109415346 A, 2019.03.01

(30) 优先权数据

19383057.7 2019.11.28 EP

US 2006264440 A1, 2006.11.23

WO 2016160833 A1, 2016.10.06

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.05.20

WO 02/066462 A1, 2002.08.29

CN 110433164 A, 2019.11.12

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2020/083566 2020.11.27

Cheng Hua Jin et al..Synthesis and biological evaluation of 1-substituted-3-(5)-(6-methylpyridin-2-yl)-4-(quinoxalin-6-yl)pyrazoles as

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/105317 EN 2021.06.03

transforming growth factor- β type 1

receptor kinase inhibitors.《European

(73) 专利权人 阿戈麦布西班牙股份有限公司

地址 西班牙拉科鲁尼亚

Journal of Medicinal Chemistry》.2011,第46卷第3917-3925页.

(续)

(72) 发明人 R·鲍瑟尔阿尔塔 B·潘平卡萨尔

J·C·帕洛米诺拉里亚

审查员 朱亚莉

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

专利代理师 张朔 黄革生

(51) Int.Cl.

C07D 401/14 (2006.01)

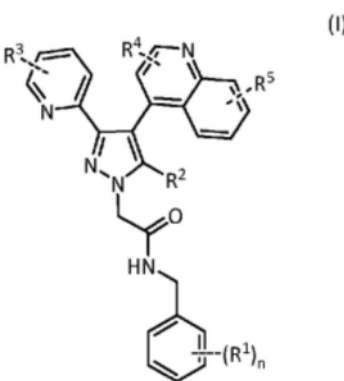
权利要求书4页 说明书29页

(54) 发明名称

作为转化生长因子- β 受体I/ALK5抑制剂的
苯甲酰胺衍生物

(57) 摘要

本发明涉及新的式(I)的苄基酰胺衍生物,制备所述化合物的方法,包含所述化合物的药物组合物,用于治疗可通过转化生长因子- β 受体I (TGF β RI) /ALK5的抑制而改善的病理状况或疾病、例如与胃肠系统、皮肤和眼的纤维化病症相关的疾病和障碍的所述化合物,用于治疗和/或预防所述疾病或病理状况的方法,以及包含所述化合物和还包含治疗有效量的可用于治疗所述疾病或病理状况的其它治疗剂的组合。



[接上页]

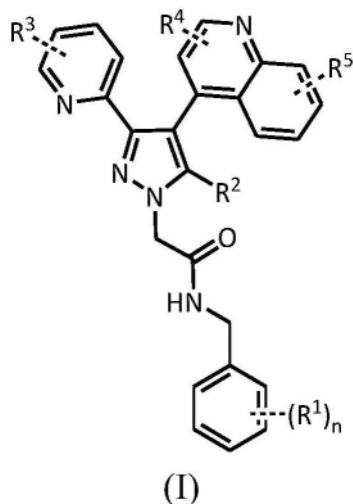
(56) 对比文件

Cheng Hua Jin et al..Synthesis and biological evaluation of 1-substituted-3-(5)-(6-methylpyridin-2-yl)-4-(quinolin-6-yl)pyrazoles as transforming growth factor- β type 1 receptor kinase

inhibitors.《Bioorganic & Medicinal Chemistry》.2011,第19卷第2633-2640页.

盖小雄等.转化生长因子- β 抑制剂研究进展.《药学报》.2015,第50卷(第4期),第413-418页.

1. 式 (I) 化合物:



其中:

-R¹独立地表示选自以下的1或2个基团:

- a) 卤素原子,
- b) 任选被1、2或3个卤素原子取代的直链或支链C₁-C₆烷基,
- c) 氰基,
- d) C₁-C₃烷氧基,
- e) -COOH,

-R²表示选自以下的基团:

- a) 氢原子,
- b) C₁-C₃烷基,

-R³表示选自以下的基团:

- a) 氢原子,
- b) 任选被1、2或3个卤素原子取代的C₁-C₃烷基,
- c) 卤素原子,

-R⁴和R⁵独立地表示选自以下的基团:

- a) 氢原子,
- b) 任选被1、2或3个卤素原子取代的C₁-C₃烷基,
- c) 卤素原子,

-n的值为0、1或2,或其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐,其为式 (I) 化合物。

3. 根据权利要求1的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐,其为式 (I) 化合物的药学上可接受的盐。

4. 根据权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐,其中R²、R⁴和R⁵表示氢原子。

5. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中n为0,或者n为1或2,且每个R¹独立地表示卤素原子。

6. 根据权利要求5的化合物或其药学上可接受的盐,其中n是1或2,且每个R¹表示卤素原子。

7. 根据权利要求6的化合物或其药学上可接受的盐, 其中n是2, 且每个R¹表示卤素原子。
8. 根据权利要求7的化合物或其药学上可接受的盐, 其中每个R¹选自氟原子和氯原子。
9. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中R³表示选自氢原子、乙基和甲基的基团。

10. 根据权利要求9的化合物或其药学上可接受的盐, 其中R³表示甲基。

11. 根据权利要求1的化合物或其药学上可接受的盐, 其中R²、R⁴和R⁵独立地表示氢原子, n为0或者n为1或2, 每个R¹独立地表示卤素原子, 且R³表示选自氢原子、乙基和甲基的基团。

12. 根据权利要求11的化合物或其药学上可接受的盐, 其中n为1或2, 每个R¹选自氟原子和氯原子, 且R³表示甲基。

13. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其选自:

N-苄基-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(4-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(4-氯苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(4-溴苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(4-氰基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(4-甲氧基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(4-甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(4-(叔丁基)苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-苄基-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(3-甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(3-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(3-氯苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(3-氰基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(2-甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(2-甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(2-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(2-氟苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-苄基-2-(3-(6-乙基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
2-(3-(6-乙基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)-N-(2-甲基苄基)乙酰胺;
N-(4-甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(2-氯苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(2-氯苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(2,6-二氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(2,6-二氟苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(2,6-二甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(2,6-二甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;

N-(2-乙基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(2,6-二氯苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;和

4-((2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺基)甲基)苯甲酸盐盐;

或其药学上可接受的盐。

14. 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐,其选自:

N-(2,6-二氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;
N-(2,6-二氟苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;和

N-(2,6-二氯苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺;

或其药学上可接受的盐。

15. 根据权利要求14所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其为式(I)化合物。

16. 根据权利要求14所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其为式(I)化合物的药学上可接受的盐。

17. 药物组合物,包含如权利要求1至16任一项所定义的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的稀释剂或载体。

18. 组合产品,包含如权利要求1至16任一项所定义的化合物或其药学上可接受的盐和用于治疗 and/或预防选自以下的疾病的治疗剂:胃肠疾病,肝纤维化和癌症;纤维化皮肤病;纤维化眼疾病。

19. 如权利要求18定义的组合产品,其中所述治疗剂用于治疗 and/或预防选自以下的疾病:

a) 炎性肠病;
b) 胃癌、食道癌和结肠直肠癌;
c) 硬皮病、肾源性纤维化皮肤病、混合性结缔组织病、硬化性粘液水肿、硬化病和嗜酸性筋膜炎;和

d) 干眼症、年龄相关性黄斑变性、角膜和结膜瘢痕、白内障后纤维化、增殖性玻璃体视网膜病变和增殖性糖尿病性视网膜病变。

20. 如权利要求19定义的组合产品,其中所述治疗剂用于治疗 and/或预防克罗恩病和/或溃疡性结肠炎。

21. 如权利要求1至16任一项所定义的化合物或其药学上可接受的盐、如权利要求17所定义的药物组合物或如权利要求18-20所定义的组合产品在制备药物中的用途,所述药物用于治疗 and/或预防可通过转化生长因子- β 受体I(TGF β RI/ALK5)的抑制而改善的疾病或病理状况。

22. 根据权利要求21所述的用途,其中所述疾病或病理状况选自胃肠疾病,肝纤维化,癌症;纤维化皮肤病;和纤维化眼疾病。

23. 根据权利要求22的用途,其中所述疾病或病理状况选自:

a) 炎性肠病;

- b) 胃癌、食道癌和结肠直肠癌；
- c) 硬皮病、肾源性纤维化皮肤病、混合性结缔组织病、硬化性粘液水肿、硬化病和嗜酸性筋膜炎；和
- d) 干眼症、年龄相关性黄斑变性、角膜和结膜瘢痕、白内障后纤维化、增殖性玻璃体视网膜病变和增殖性糖尿病性视网膜病变。

24. 根据权利要求23的用途,其中所述疾病或病理状况选自克罗恩病和溃疡性结肠炎。

作为转化生长因子- β 受体I/ALK5抑制剂的苯甲酰胺衍生物

发明领域

[0001] 本发明涉及新的被适宜取代的苯甲酰胺衍生物,作为转化生长因子- β 受体I激酶(也称为激活素受体样激酶5)(TGF β RI)/ALK5的强效抑制剂。

[0002] 本发明还涉及制备这些化合物的方法;包含有效量的这些化合物的药物组合物;所述化合物在制备用于治疗可通过抑制转化生长因子- β 受体I(TGF β RI)/ALK5改善的病理状况或疾病的药物中的用途,这类疾病或病症与胃肠系统、皮肤和眼睛的纤维化状况有关。

[0003] 现有技术状态

[0004] 转化生长因子- β (TGF- β)属于TGF- β 超家族,所述家族由TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3等蛋白质组成。TGF- β 参与许多细胞过程,包括细胞增殖、细胞迁移、侵袭、上皮-间质转化、细胞外基质产生和免疫抑制。TGF- β 及其受体通常在各种人类疾病、包括癌症、炎症、组织纤维化和自身免疫中长期过度表达。因此,阻断TGF- β 信号通路被认为是药物开发的一个有吸引力的靶标。(Heldin C.H.等人,Signaling Receptors for TGF- β Family Members,Cold Spring Harb Perspect Biol,2016,doi:10.1101/cshperspect.a022053)。

[0005] TGF- β 通过两种相关的跨膜I型和II型丝氨酸/苏氨酸激酶受体发信号。在TGF- β 与组成型活性II型受体结合后,I型受体(也称为激活素受体样激酶5(ALK5))被磷酸化,产生Smad2和Smad3蛋白质的结合位点,所述蛋白质被进一步磷酸化。磷酸化Smad2/Smad3蛋白质与Smad4形成异聚复合物,其易位进入细胞核,与特定的DNA结合辅因子和共调节因子组装,并与参与细胞分化、增殖、凋亡、迁移和细胞外基质产生的TGF β 靶基因的启动子结合(Akhurst R.J.等人,Targeting the TGF β signalling pathway in disease,Nature/Reviews,2012年1月,第11卷)。

[0006] 在大多数细胞类型中,激活素受体样激酶5-ALK5(也称为TGF β RI)是优势TGF β 受体I,其由TGF- β 通过TGF β 受体II激活。这种相互作用需要细胞外和细胞内结构域两者来进行信号转导。ALK5和TGF β 受体II蛋白质还可以在配体的情况下形成活性异低聚复合物。当两种受体由于它们对相互作用的固有亲和力而共表达时,这些复合物能够转导基础信号。(Bierie B.等人,TGF- β :the molecular Jekyll and Hyde of cancer,Nature Reviews,Cancer,第6卷,2006年7月)。

[0007] 功能性TGF β RII-TGF β RI(ALK5)异聚信号传导复合物通常与人类癌症相关,它调节下游Smad-依赖性和Smad-非依赖性通路的激活。事实上,很多研究已经确定了与TGF- β 通路相关的组分中的突变,它们与多种人体组织中的癌症发生和预后相关。TGF- β 1的过表达已经与乳癌、结肠癌、食道癌、胃癌、肝细胞癌、肺癌和胰腺癌有关。重要的是,人类癌症中TGF- β 的过表达与肿瘤进展、转移、血管生成和不良预后结果相关。

[0008] 癌症

[0009] 目前,已经采用包括修饰免疫组分或递送小分子抑制剂和可溶性蛋白质或反义化合物抑制剂的策略靶向于TGF- β 通路。在动物中已经采用免疫治疗策略靶向于TGF- β 通路。

[0010] 常用的免疫治疗策略在负荷肿瘤在接受者中减少免疫组分中的TGF- β 信号传导,然后重构,由此允许与癌细胞的生产性相互作用。或者,全身递送用于抑制TGF- β 的化合物

通常会消除所有受TGF- β 调节的宿主-肿瘤相互作用,包括涉及免疫逃避、血管生成、基质-上皮串扰和肿瘤细胞自主信号传导的那些。由于免疫介导的疾病和致死性与小鼠中TGF- β 信号传导的基因消融或抑制相关,因此尚不清楚当在持续时期体内递送时抑制这种通路来治疗癌症是否与患者的生存相适应。然而,最近已经表明,在小鼠模型中终生暴露于全身性可溶性TGF- β 抑制剂不导致显著的副作用。这些研究已经表明,当在持续时期体内给予人时,TGF- β 特异性抑制应当与长期存活相适应。(Yang,Y.等人,Lifetime exposure to a soluble TGF- β antagonist protects mice against metastasis without adverse side effects,J.Clin.Invest.109:1607-1615(2002))和(Ruzek M.等人,Minimal Effects on Immune Parameters Following Chronic Anti-TGF- β Monoclonal Antibody Administration to Normal Mice,Immunopharmacology and Immunotoxicology,第25卷,第2期,第235-257页,2003)。

[0011] 在肿瘤微环境中,TGF- β 信号传导影响多种细胞类型,例如免疫细胞、癌症起始细胞、内皮细胞和成纤维细胞。这些微环境变化的总体作用导致肿瘤进展和转移。TGF- β 信号传导存在于大多数恶性病中,例如肝细胞癌、胰腺癌和骨髓发育不良综合征。由于这种突出的作用,已经开发了数种小分子抑制剂来阻断TGF- β 信号通路,意欲减少肿瘤生长。(Rodon, J.等人,First-in-Human Dose Study of the Novel Transforming Growth Factor- β Receptor I Kinase Inhibitor LY2157299 Monohydrate in Patients with Advanced Cancer and Glioma,美国癌症研究学会,2014年11月25日;doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-1380)。

[0012] 肝细胞癌(HCC)是一种高度恶化的癌症,在美国和欧洲是肿瘤相关死亡的第三大常见原因。目前的治疗选择是侵入性的,旨在物理去除或破坏肿瘤块。然而,后期复发和/或转移扩散是常见的,并对生存产生负面影响。总体预后仍然是不令人满意的,在寻找新治疗选择方面进展甚微。据报道,在HCC患者中,TGF- β 在血液和尿液中均过度表达,与差的预后和存活率相关,因此表示了这种癌症的标志物。已经证明,TGF- β 通过触发细胞的上皮间质转化(EMT)在调节HCC侵袭性中起关键作用。研究已经表明,用小分子抑制剂抑制TGF- β 通路可能是HCC患者的一种有前途的疗法。(Fransvea,E.等人,Blocking Transforming Growth Factor- β Up-Regulates E-Cadherin and Reduces Migration and Invasion of Hepatocellular Carcinoma Cells,Wiley InterScience,2008,doi 10.1002/hep.22201)。

[0013] 胰腺癌是全球成年人癌症死亡的主要原因之一。对于所有组合阶段,5年生存率为5%,诊断后的中位生存期为<6个月。在诊断时,三分之二的患者存在局部晚期或转移性疾病。甚至当胰腺癌明显位于胰腺并通过手术切除时,70%的患者将发生肝转移。因此,胰腺癌是癌症研究中最大的挑战之一。特别地,已经发现显示出TGF- β 水平升高的人胰腺癌与静脉侵袭、晚期肿瘤期、进展性疾病、较短的患者生存期和肝转移显著相关。胰腺肿瘤产生的TGF- β 通过影响肿瘤微环境中树突状细胞的表型和功能阻碍了有效的抗肿瘤免疫应答。有研究表明,通过全身施用新的小分子选择性TGFRI/II激酶抑制剂LY2109761来抑制TGF- β 信号级联反应可抑制人胰腺癌体内模型中的肝和其它腹部部位转移。(Melisi,D.等人,LY2109761,a novel transforming growth factor β receptor type I and type II dual inhibitor,as a therapeutic approach to suppressing pancreatic cancer

metastasis, *Mol Cancer Ther* 2008;7(4).2008年4月)。

[0014] 结直肠癌,也称为结肠癌,在肿瘤微环境中具有特定的特征,例如T细胞浸润的缺乏、低的1型T辅助细胞(TH1)活性和降低的免疫细胞毒性或升高的TGF- β 水平。最近的研究已经表明,肿瘤微环境中TGF- β 的增加表示了免疫逃避的主要机制,它促进T细胞排斥和阻止TH1效应子表型的获得。因此,针对TGF- β 信号传导的免疫疗法在晚期结直肠癌患者的治疗中具有广泛的应用。(Tauriello D.V.F,等人,TGF- β drives immune evasion in genetically reconstituted colon cancer metastasis,*Nature*,在线公开:2018年2月14日,doi:10.1038/nature25492)。

[0015] 脑膜瘤占原发性脑肿瘤的约36%。缺乏可行的化学疗法促使人们寻找靶向于生长调节细胞因子的新疗法。其中,转化生长因子 β (TGF- β)超家族的成员可能是特别相关的。较高级别、特别是间变性脑膜瘤具有最高的复发率和对任何级别的脑膜瘤的任何当前治疗的最低应答。恢复TGF- β 抑制信号传导通路可以是开发有效的脑膜瘤化学疗法的重要组成。迄今为止,直接的治疗选择是有限的,这部分归因于与恢复TGF- β 基线抑制相关的毒性。尽管如此,在其中TGF- β 从抑制作用转变为促进肿瘤进展的恶性病中,TGF- β 信号传导可被TGF- β I型受体的小分子抑制剂阻断。初步研究表明,LY2157229(Galunisertib)可有效阻断TGF- β 作用。(Johnson,M.D.Transforming growth factor β family in the pathogenesis of meningiomas,*World Neurosurgery*,doi:10.1016/j.wneu.2017.03.058)。

[0016] Galunisertib是一种TGF β RI激酶抑制剂,目前正处于多种癌症的临床开发中(Herbertz,S等人,Clinical development of galunisertib(LY2157299monohydrate),a small molecule inhibitor of transforming growth factor-beta signaling pathway,*Drug Design,Development and Therapy* 2015:9 4479-4499)。抑制TGF β RI/Alk5激酶结构域的IC₅₀为0.172 μ M,抑制ALK4的IC₅₀为0.77 μ M。还抑制一系列其它激酶,IC₅₀为亚微摩尔,包括MINK、TGF β RII、ALK6和ACVR2B。早期的报道显示,高剂量的这些化合物与大鼠和狗中的副作用有关。因此,在选择人类个体的给药方案时推荐高度严格性,以达到预期的效果和最小的毒性。这种化合物是口服生物可利用的。(Yingling,J.M.等人,Preclinical assessment of galunisertib(LY2157299monohydrate),a first-in-class transforming growth factor- β receptor type I inhibitor,*Oncotarget*.2018年1月23日;9(6):6659-6677)。

[0017] 其它处于临床开发的TGF- β I型受体激酶抑制剂是EW-7197,它在激酶测定中抑制ALK5的IC₅₀值为0.013 μ M。它是一种高度选择性的ALK5/ALK4抑制剂,在大鼠药物动力学研究中显示口服生物利用度为51%,全身暴露量高。(Jin,C.H.等人,Discovery of N-((4-([1,2,4]Triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)-5-(6-methylpyridin-2-yl)-1H-imidazol-2-yl)methyl)-2-fluoroaniline(EW-7197):A Highly Potent,Selective,and Orally Bioavailable Inhibitor of TGF- β Type I Receptor Kinase as Cancer Immunotherapeutic/Antifibrotic Agent,*J.Med.Chem.*2014,57,4213-4238)。

[0018] 纤维化病症

[0019] 大量证据表明,经典ALK5/Smad3通路与多种组织中纤维化的发病机制密切相关。在进行性TGF- β 1诱导的肺纤维化大鼠模型中,口服施用ALK5激酶活性的小分子量选择性抑制剂抑制了纤维化。而且,Smad3缺失小鼠在广泛的实验模型中表现出减弱的纤维化,并且

对博来霉素诱导的肺纤维化具有抗性。类似地,照射后皮肤纤维化、单侧输尿管梗阻产生的肾间质纤维化和心脏纤维化在Smad3缺陷动物中均减弱。(Biernacka,A.等人,TGF- β signaling in fibrosis,Growth Factors.2011年10月;29(5):196-202.doi:10.3109/08977194.2011.595714)。

[0020] TGF- β 细胞内信号传导通路的抑制剂是纤维增殖性疾病的有用治疗。具体而言,纤维增殖性疾病包括与不受调节的TGF- β 活性和过度纤维化相关的肾脏疾病,包括肾小球肾炎(GN)、例如肾小球膜增殖性GN、免疫GN和新月形GN。其它肾脏疾病包括糖尿病性肾病、肾间质纤维化、移植患者肾纤维化。胶原血管疾病包括进行性系统性硬化症、多发性肌炎和硬皮病。与纤维增殖性特征相关的自身免疫性疾病是系统性红斑狼疮和类风湿性关节炎。

[0021] 骨髓纤维化(MF)是一种以克隆性骨髓增殖、异常细胞因子产生、髓外血细胞产生和骨髓纤维化为特征的骨髓疾病。虽然已经在这些疾病的发病机制中发现了Janus激酶2(JAK2)、骨髓增殖性白血病病毒(MPL)和钙网蛋白基因(CALR)的体细胞突变,但是JAK2通路的抑制剂尚未显示出改善患者MF的功效。TGF- β 家族成员是促纤维化细胞因子,在一大组原发性MF患者样本中观察到显著的TGF- β 1同工型过表达。已经证明,TGF- β 1通过激活TGF- β 受体I激酶(ALK5)/Smad3通路来刺激间质基质细胞(MSCs)的过度胶原蛋白沉积。使用临床活性的ALK5抑制剂Galunisertib显著改善了小鼠模型中的MF。这些数据证明了恶性造血干细胞(HSC)/TGF- β /MSC轴在MF发病机制中的作用,为ALK5阻断作为MF治疗策略提供了临床前基本依据。(Yue,L.等人,Efficacy of ALK5 inhibition in myelofibrosis,JCI Insight.2017;2(6):e90932;doi.org/10.1172/jci.insight.90932)。

[0022] 此外,有研究已经考察了TGF- β 抑制剂在预防术后腹膜粘连带形成中的治疗潜力,结果表明,这些种类的化合物通过抑制炎症、氧化应激、促炎基因的下调以及纤维化和促纤维化分子的抑制显著减弱了粘连带形成。(Soleimani,A.等人,Novel oral transforming growth factor- β signaling inhibitor potently inhibits postsurgical adhesion band formation,J Cell Physiol.2019;1-9)

[0023] 已经开发了数种抑制ALK5的小分子,它们在肾纤维化动物模型中显示出令人鼓舞的结果。然而,对于ALK5信号传导的内稳态作用以及因此对于靶向于该酶的安全性影响仍然存在疑问。一项研究显示,免疫组织化学分析揭示在心脏中ALK5表达是瓣膜独有的。在大鼠中测试了两种化合物(AZ12601011和AZ12799734)。显微镜评价揭示了响应于任一种化合物处置出现了心脏瓣膜损伤。这两种化合物均诱导了以瓣膜间质细胞的出血、炎症、退化和增殖为特征的组织病理学心脏瓣膜损伤。在所有动物中在所有测试剂量下观察到病变,并且病变发生在所有四个心脏瓣膜中。大鼠心脏中ALK5的分析揭示了在瓣膜中的表达,而不是在心肌中的表达。与对照动物相比,经治疗动物的心脏瓣膜中的ALK5蛋白质水平没有变化。这些发现表明,经由ALK5的TGF- β 信号传导在维持心脏瓣膜完整性方面发挥关键作用。(Anderton MJ等人,Induction of Heart Valve Lesions by Small-Molecule ALK5 Inhibitors,Toxicologic Pathology,39:916-924,2011)。

[0024] 另外,在大鼠和狗中测试了另一种ALK-5抑制剂Galunisertib。在两者中,心脏和大血管被确定为毒性的主要靶器官。用LY2157299治疗的F344大鼠的心血管发现包括退行性和炎性瓣膜损伤(瓣膜病)、心肌变性和坏死、主动脉炎伴破裂、血管炎/血管周围炎和心脏重量增加。(Stauber等人,Nonclinical Safety Evaluation of a Transforming

Growth Factor β Receptor I Kinase Inhibitor in Fischer 344Rats and Beagle Dogs, J Clin Pract.2014,4:3)。

[0025] 肠易激病 (IBD)

[0026] 在肠道中,很多免疫和非免疫细胞产生TGF- β 1,几乎所有的粘膜细胞都是这种细胞因子的靶标。TGF- β 1作为潜伏复合物的一部分被分泌出,所述复合物包括潜伏相关肽(LAP)和潜伏TGF- β 结合蛋白质。最近研究的数据清楚地表明,转化生长因子 β 1是参与调节肠道上皮细胞生物学和免疫的关键分子之一。

[0027] 这些研究强调了TGF- β 1在维持肠内稳态中的关键作用,提示该细胞因子的功能缺陷可造成触发和/或放大肠中的有害信号(Troncone E.等人,Transforming Growth Factor- β 1/Smad7 in intestinal immunity,inflammation,and Cancer, Front.Immunol.9:1407,2018)。

[0028] 直到现在,研究人员已经研究了炎症机制以缓解和抑制肠纤维化。然而,抗炎剂在缓解或治疗炎性肠病(IBD)中的纤维化方面存在各种问题和局限性。因此,为了治疗纤维化疾病,应当探索新的方法用于抗纤维化机制。大量出版物已经表明,与TGF- β 信号传导相关的分子牵涉在纤维化中,因此它是肠纤维化进展的重要靶标,因为它与调节IBD肠道纤维化进展的机制的复杂多样的信号传导相关。因此,TGF- β 信号转导是治疗和缓解多种纤维化疾病、包括IBD中的纤维化的潜在策略。(Yun S.M.等人,The Molecular Mechanism of Transforming Growth Factor- β Signaling for Intestinal Fibrosis:A Mini-Review, Frontiers in Pharmacology,Mini-Review,2019年2月27日出版;Binabaj M.M等人,EW-7197prevents ulcerative colitis-associated fibrosis and inflammation,J Cell Physiol.2018;1-8)。

[0029] 眼疾病

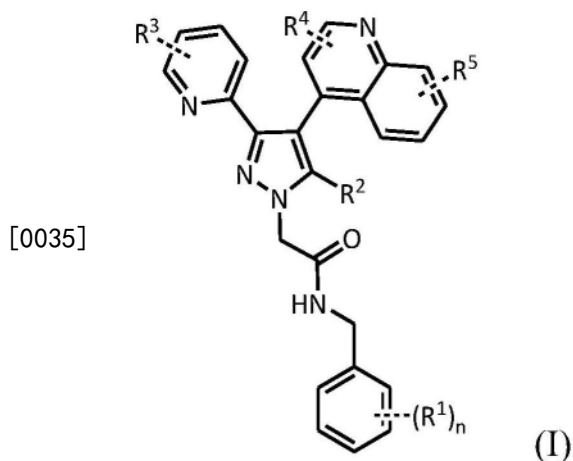
[0030] 转化生长因子- β (TGF- β)可以在原发性开角型青光眼(POAG)的发病机制中发挥作用。TGF- β 已经牵涉在POAG的发病机制中,TGF- β 靶向的潜在领域包括产生、激活、下游信号传导和局部调节。在青光眼患者的房水和反应性视神经星形胶质细胞中发现了TGF- β 水平升高。尽管最近的研究揭示了很多未知的情况,但是对TGF- β 细胞信号传导通路更深入的了解对于设计潜在的TGF- β 干预策略是必要的。(Wang,J.等人,Targeting Transforming Growth Factor-b Signaling in Primary Open-Angle Glaucoma,J Glaucoma 2017;26: 390-395)。

[0031] 与纤维增殖性疾病相关的眼疾病包括视网膜再附着手术伴增殖性玻璃体视网膜病变、白内障摘除术及眼内晶体植入,以及青光眼后引流手术与TGF- β 1过度产生相关。

[0032] 本发明的作者已经开发了新的被适宜取代的苯甲酰胺衍生物作为有效的TGF- β 信号传导通路抑制剂,特别是作为转化生长因子- β 受体I/激活素样激酶5(TGF β RI/ALK5)的抑制剂,其具有低的全身暴露,这有助于避免显著的熟知的副作用。因此,本发明公开了具有低全身暴露的ALK5抑制剂,所述低全身暴露赋予它们良好的治疗窗。

[0033] 发明概述

[0034] 在一个方面(方面1),本发明涉及新的式(I)的被适宜取代的苯甲酰胺衍生物:



[0036] 其中：

[0037] -R¹独立地表示选自以下的1或2个基团：

[0038] a) 卤素原子，

[0039] b) 任选被1、2或3个卤素原子取代的直链或支链C₁-C₆烷基，

[0040] c) 氰基，

[0041] d) C₁-C₃烷氧基，

[0042] e) -COOH，

[0043] -R²表示选自以下的基团：

[0044] a) 氢原子，

[0045] b) C₁-C₃烷基，

[0046] c) C₃-C₄环烷基，

[0047] -R³表示选自以下的基团：

[0048] a) 任选被1、2或3个卤素原子取代的C₁-C₃烷基，

[0049] b) 氢原子，

[0050] c) 卤素原子，

[0051] -R⁴和R⁵独立地表示选自以下的基团：

[0052] a) 氢原子，

[0053] b) 任选被1、2或3个卤素原子取代的C₁-C₃烷基，

[0054] c) 卤素原子，

[0055] -n的值为0、1或2，及其药学上可接受的盐。

[0056] 在第二方面，本发明涉及制备方面1的化合物的方法。

[0057] 在第三方面，本发明涉及药物组合物，其包含方面1的化合物和药学上可接受的稀释剂或载体。

[0058] 在第四方面，本发明涉及根据上述第三方面的药物组合物，其还包含治疗有效量的治疗剂，所述治疗剂选自可用于治疗如下疾病的物质：胃肠疾病，例如炎性肠病，其中包括克罗恩病和溃疡性结肠炎，肝纤维化和癌症，特别是胃癌、食道癌和结肠直肠癌；纤维化皮肤病，例如硬皮病、肾源性纤维化皮肤病、混合性结缔组织病、硬化性粘液水肿、硬化病和嗜酸性筋膜炎；纤维化眼疾病，例如干眼症、年龄相关性黄斑变性、角膜和结膜瘢痕、白内障后纤维化、增殖性玻璃体视网膜病变和增殖性糖尿病性视网膜病变。

[0059] 在第五方面,本发明涉及方面1的化合物在制备用于治疗 and/或预防可通过转化生长因子- β 受体I (TGF β RI) /ALK5的抑制而改善的疾病或病理状况的药物中的用途,所述疾病或病理状况例如是胃肠疾病,例如炎性肠病,其中包括克罗恩病和溃疡性结肠炎,肝纤维化和癌症,特别是胃癌、食道癌和结肠直肠癌;纤维化皮肤病,例如硬皮病、肾源性纤维化皮肤病、混合性结缔组织病、硬化性粘液水肿、硬化病和嗜酸性筋膜炎;纤维化眼疾病,例如干眼症、年龄相关性黄斑变性、角膜和结膜瘢痕、白内障后纤维化、增殖性玻璃体视网膜病变和增殖性糖尿病性视网膜病变。

[0060] 在第六方面,本发明涉及治疗和/或预防可通过转化生长因子- β 受体I (TGF β RI) /ALK5的抑制而改善的疾病或病理状况的方法,所述疾病或病理状况例如是胃肠疾病,例如炎性肠病,其中包括克罗恩病和溃疡性结肠炎,肝纤维化和癌症,特别是胃癌、食道癌和结肠直肠癌;纤维化皮肤病,例如硬皮病、肾源性纤维化皮肤病、混合性结缔组织病、硬化性粘液水肿、硬化病和嗜酸性筋膜炎;纤维化眼疾病,例如干眼症、年龄相关性黄斑变性、角膜和结膜瘢痕、白内障后纤维化、增殖性玻璃体视网膜病变和增殖性糖尿病性视网膜病变。

[0061] 在第七方面,本发明涉及上述第一方面的化合物与一种或多种已知可用于治疗选自以下的疾病的治疗剂的组合产品:例如胃肠疾病,例如炎性肠病,其中包括克罗恩病和溃疡性结肠炎,肝纤维化和癌症,特别是胃癌、食道癌和结肠直肠癌;纤维化皮肤病,例如硬皮病、肾源性纤维化皮肤病、混合性结缔组织病、硬化性粘液水肿、硬化病和嗜酸性筋膜炎;纤维化眼疾病,例如干眼症、年龄相关性黄斑变性、角膜和结膜瘢痕、白内障后纤维化、增殖性玻璃体视网膜病变和增殖性糖尿病性视网膜病变。

[0062] 在第八方面,本发明涉及方面1的化合物,其用于治疗 and/或预防可通过转化生长因子- β 受体I (TGF β RI) /ALK5的抑制而改善的疾病或病理状况,所述疾病或病理状况例如是胃肠疾病,例如炎性肠病,其中包括克罗恩病和溃疡性结肠炎,肝纤维化和癌症,特别是胃癌、食道癌和结肠直肠癌;纤维化皮肤病,例如硬皮病、肾源性纤维化皮肤病、混合性结缔组织病、硬化性粘液水肿、硬化病和嗜酸性筋膜炎;纤维化眼疾病,例如干眼症、年龄相关性黄斑变性、角膜和结膜瘢痕、白内障后纤维化、增殖性玻璃体视网膜病变和增殖性糖尿病性视网膜病变。

[0063] 在一个具体实施方案中,式(I)化合物在口服、局部或眼施用后具有低全身暴露,这是由于其非常低的代谢稳定性,导致形成无活性代谢物。出于该原因,它们特别适于治疗胃肠疾病,例如炎性肠病,其中包括克罗恩病和溃疡性结肠炎,肝纤维化和癌症,特别是胃癌、食道癌和结肠直肠癌;纤维化皮肤病,例如硬皮病、肾源性纤维化皮肤病、混合性结缔组织病、硬化性粘液水肿、硬化病和嗜酸性筋膜炎;纤维化眼疾病,例如干眼症、年龄相关性黄斑变性、角膜和结膜瘢痕、白内障后纤维化、增殖性玻璃体视网膜病变和增殖性糖尿病性视网膜病变。

[0064] 如前所述,本发明的苯甲酰胺衍生物可用于治疗或预防已知易于通过转化生长因子- β 受体I (TGF β RI) /ALK5抑制剂治疗而改善的疾病,例如胃肠疾病,例如炎性肠病,其中包括克罗恩病和溃疡性结肠炎,肝纤维化和癌症,特别是胃癌、食道癌和结肠直肠癌;纤维化皮肤病,例如硬皮病、肾源性纤维化皮肤病、混合性结缔组织病、硬化性粘液水肿、硬化病和嗜酸性筋膜炎;纤维化眼疾病,例如干眼症、年龄相关性黄斑变性、角膜和结膜瘢痕、白内障后纤维化、增殖性玻璃体视网膜病变和增殖性糖尿病性视网膜病变。

[0065] 因此,本发明的衍生物及其药学上可接受的盐以及包含这类化合物和/或其盐的药物组合物可用于治疗人体病理状况或疾病的方法中,所述方法包括给需要该治疗的个体施用有效量的本发明的苯甲酰胺衍生物或其药学上可接受的盐。

[0066] 如本文所用的术语 C_a-C_b 烷基包括具有a至b个碳原子的直链或支链基团。优选的基团具有1至6个碳原子,优选1至4个碳原子。直链或支链烷基的实例是甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基和己基。

[0067] 如本文所用的术语直链或支链 C_a-C_b 烷氧基用于表示含有与氧原子连接的 C_a-C_b 烷基的基团($C_xH_{2x+1}-O-$)。优选的基团具有1至6个碳原子,优选1至4个碳原子。优选的烷氧基包括例如甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基。

[0068] 如本文所用,术语卤素原子包括氯、氟、溴和碘原子,优选氟、氯和溴原子。术语卤代当用作前缀时具有相同的含义。仅作为示例,卤代烷基指被一个或多个卤素原子取代的烷基。

[0069] 如本文所用,本发明的一般结构中存在的原子、基团、链或环中的一些是“任选取代的”。这意味着这些原子、基团、链或环可以是未取代的或在任意位置被一个或多个、例如1、2、3或4个取代基取代,由此与未取代的原子、基团、链或环结合的氢原子被化学上可接受的原子、基团、链或环代替。当存在两个或更多个取代基时,每个取代基可以相同或不同。

[0070] 如本文所用,术语药学上可接受的盐用于表示与药学上可接受的酸或碱形成的盐。药学上可接受的酸包括无机酸,例如盐酸、硫酸、磷酸、焦磷酸、氢溴酸、氢碘酸和硝酸,以及有机酸,例如柠檬酸、富马酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、抗坏血酸、草酸、琥珀酸、酒石酸、苯甲酸、乙酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸或对甲苯磺酸。药学上可接受的碱包括碱金属(例如钠或钾)、碱土金属(例如钙或镁)的氢氧化物以及有机碱如烷基胺、芳基烷基胺和杂环胺。

[0071] 根据本发明的其它优选的盐是季铵化合物,其中阴离子(X^{-n})当量与N原子的正电荷缔合。 X^{-n} 可以是各种矿物酸的阴离子,例如氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根、硝酸根、磷酸根,或者有机酸的阴离子,例如乙酸根、马来酸根、富马酸根、柠檬酸根、草酸根、琥珀酸根、酒石酸根、苹果酸根、扁桃酸根、三氟乙酸根、甲磺酸根和对甲苯磺酸根。 X^{-n} 优选为选自氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根、硝酸根、乙酸根、马来酸根、草酸根、琥珀酸根或三氟乙酸根的阴离子。更优选地, X^{-} 是氯离子、溴离子、三氟乙酸根或甲磺酸根。

[0072] 根据本发明的一个实施方案,在式(I)化合物中,每个 R^1 独立地表示卤素原子。在优选的实施方案中,n是0,或者n是1或2,且每个 R^1 表示卤素原子。在更优选的实施方案中,n为1或2,且每个 R^1 表示氟或氯原子。

[0073] 根据本发明的一个实施方案,在式(I)化合物中, R^2 表示氢原子。

[0074] 根据本发明的一个实施方案,在式(I)化合物中, R^3 表示选自任选被1、2或3个卤素原子取代的 C_1-C_3 烷基和氢原子的基团。在优选的实施方案中, R^3 表示氢或 C_1-C_3 烷基。在更优选的实施方案中, R^3 表示氢、甲基或乙基,优选氢或甲基。

[0075] 根据本发明的一个实施方案,在式(I)化合物中, R^4 表示氢原子。

[0076] 根据本发明的一个实施方案,在式(I)化合物中, R^2 、 R^4 和 R^5 表示氢原子。

[0077] 根据本发明的一个实施方案,在式(I)化合物中,n为0,或者n为1或2,且每个 R^1 独立地表示卤素原子, R^2 、 R^4 和 R^5 独立地表示氢原子,且 R^3 表示选自甲基、乙基和氢原子的基

团。在优选的实施方案中, n为0, 或者n为1或2, 且每个R¹表示卤素原子, 且R³表示甲基。在更优选的实施方案中, n为1或2, 且每个R¹独立地表示氟或氯原子。

[0078] 本发明的特定的个体化合物包括:

[0079] N-苄基-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0080] N-(4-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0081] N-(4-氯苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0082] N-(4-溴苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0083] N-(4-氰基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0084] N-(4-甲氧基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0085] N-(4-甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0086] N-(4-(叔丁基)苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0087] N-苄基-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0088] N-(3-甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0089] N-(3-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0090] N-(3-氯苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0091] N-(3-氰基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0092] N-(2-甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0093] N-(2-甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0094] N-(2-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0095] N-(2-氟苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0096] N-苄基-2-(3-(6-乙基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0097] 2-(3-(6-乙基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)-N-(2-甲基苄基)乙酰胺

[0098] N-(4-甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0099] N-(2-氯苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0100] N-(2-氯苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0101] N-(2,6-二氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0102] N-(2,6-二氟苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0103] N-(2,6-二甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0104] N-(2,6-二甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0105] N-(2-乙基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0106] N-(2,6-二氯苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

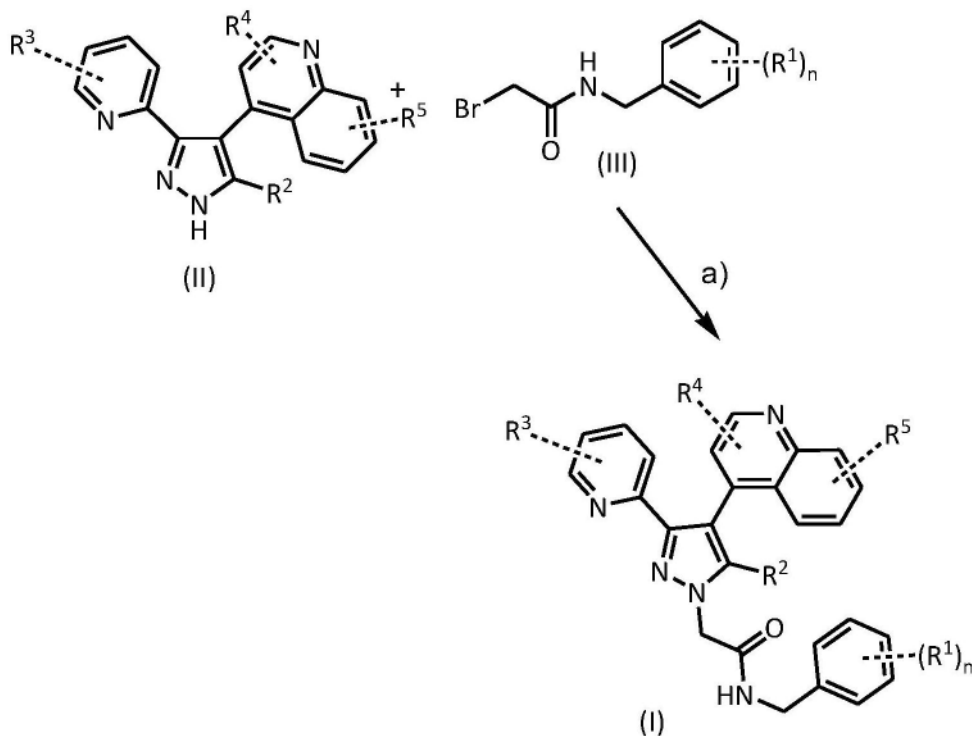
[0107] 4-((2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰氨基)甲基)苯甲酸

盐酸盐

[0108] 本发明的化合物可以通过使用下述方法制备。为了便于描述该方法,已经使用了具体实施例,但是它们不以任何方式限制本发明的范围。

[0109] 式(I)化合物的合成概述在方案1中。

[0110] 方案1



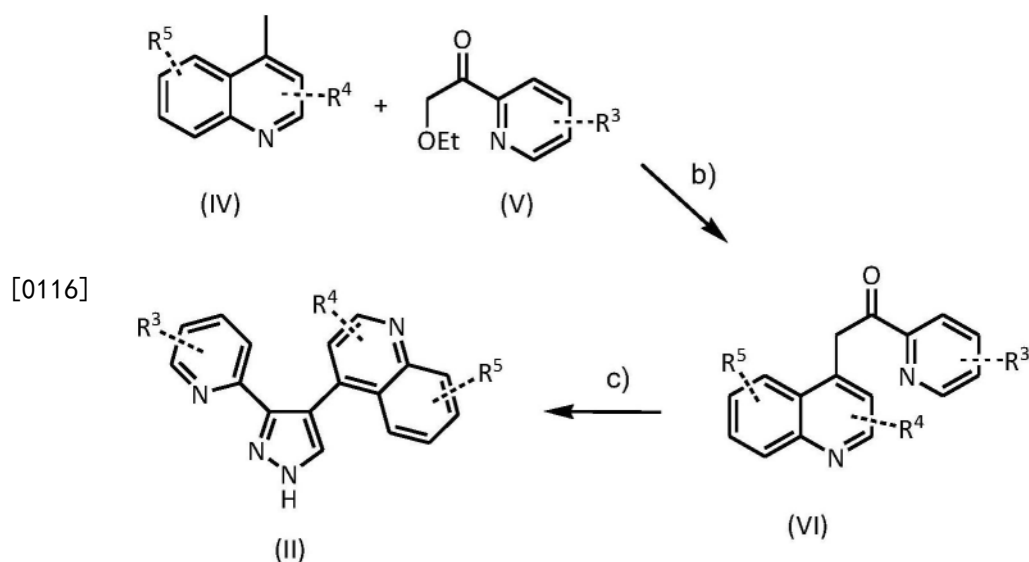
[0111]

[0112] 试剂和条件:

[0113] 阶段a) NaH、THF、DMF、0℃至RT或者Na₂CO₃、DMF、RT。

[0114] 以数个阶段、由4-(3-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)喹啉衍生物(II)开始、通过与相应的溴代乙酰胺(III)(WO 2009123316A1; Chem. Eur. J., 2013, 19(32), 10506-10510)反应制备了通式(I)化合物。一些4-(3-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)喹啉衍生物(II)是可商购的,其它可以如方案2中所示以数个步骤制得(J. Med. Chem. 2004, 47, 4494-4506; WO 2004026302A1)。

[0115] 方案2



[0117] 试剂和条件:

[0118] 阶段b) LiHMDS, THF, -60°C 至 -10°C 。

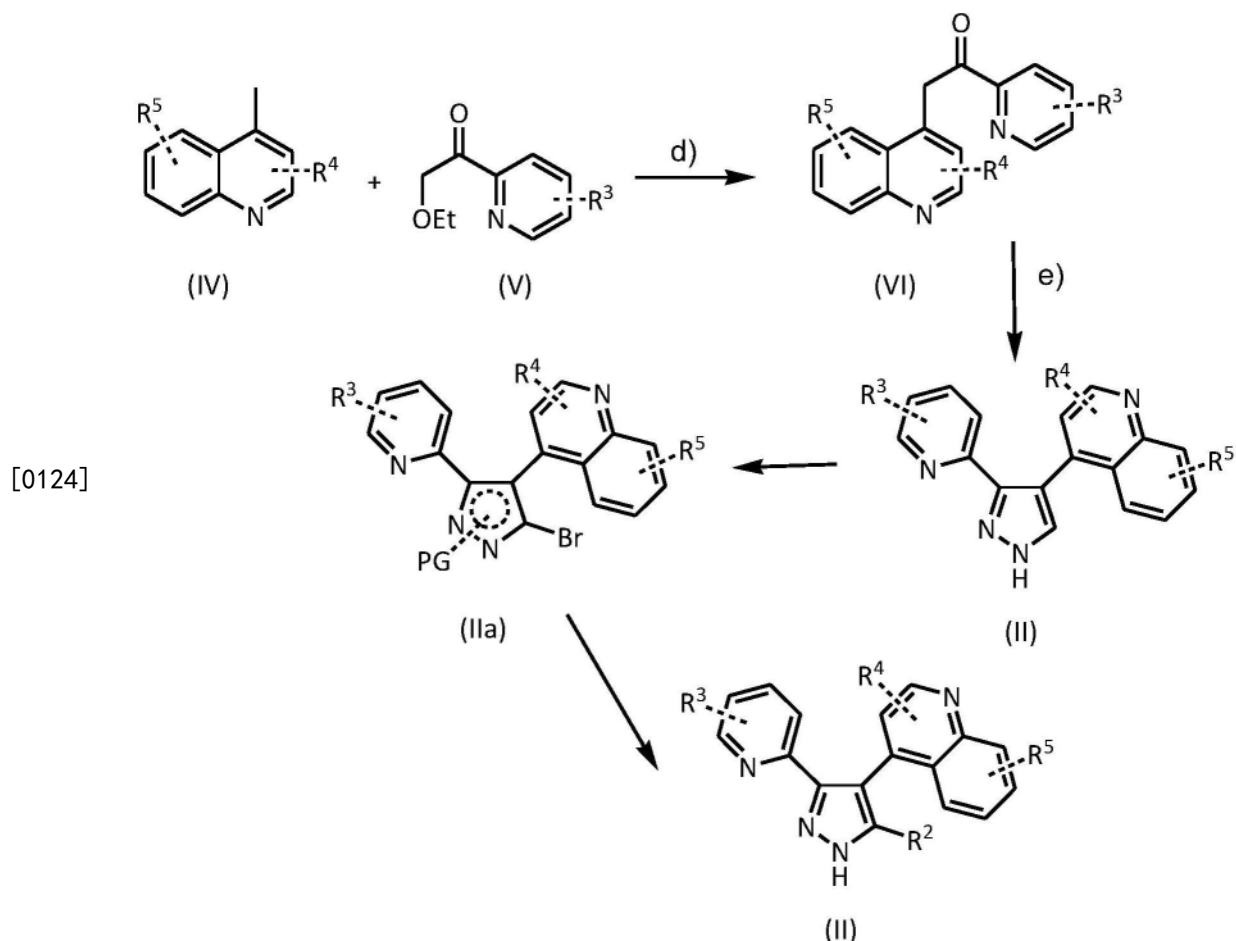
[0119] 阶段c) 其中 $\text{R}^4=\text{H}$ 的化合物。步骤1. DMF • DMA、AcOH、DMF、RT; 步骤2. $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, RT。

[0120] 其中 R^2 =任选被1、2或3个选自卤素原子的基团取代的 C_3 - C_4 环烷基的化合物: 阶段d) $\text{R}^2\text{-CO-N}_2\text{H}_3$, HCl, THF, 40°C , 根据以下方案(方案2-1)。

[0121] 4-甲基喹啉衍生物(IV)在双(三甲基甲硅烷基)氨基锂的存在下与2-吡啶甲酸乙酯(V)缩合, 得到式(VI)化合物。衍生物(VI)与二甲基甲酰胺二甲基缩醛反应, 得到未分离的烯胺中间体, 其通过在乙酸存在下与肼反应直接环化, 得到式(II)的吡唑。

[0122] 提供式(II)化合物的另一途径如下:

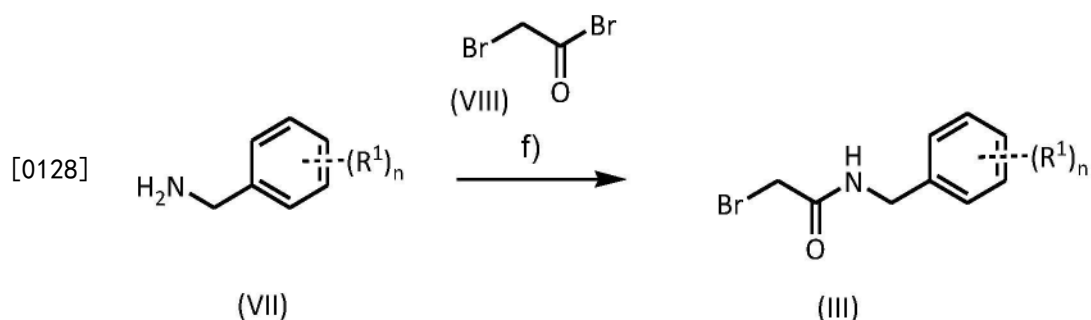
[0123] 方案2-1



[0125] 式(II)吡唑衍生物可以被卤化,得到相应的卤代化合物。在吡唑环的氮被保护后,这些化合物与标准的卤化试剂提供了式(IIa)化合物,作为琥珀酰亚胺衍生物。进行C-C偶联,然后吡唑的氮脱保护,得到式(II)衍生物。PG=保护基。保护基选自四氢吡喃(THP)、叔丁氧羰基(Boc)和三苯甲基基团(Trityl,Tr)。

[0126] 由可购买获得的胺(VII)通过与式(VIII)的溴乙酰基溴反应,以一个阶段合成了式(III)的溴代乙酰胺,如方案3所示(J.Med.Chem.2009,52,6851-6859)。

[0127] 方案3



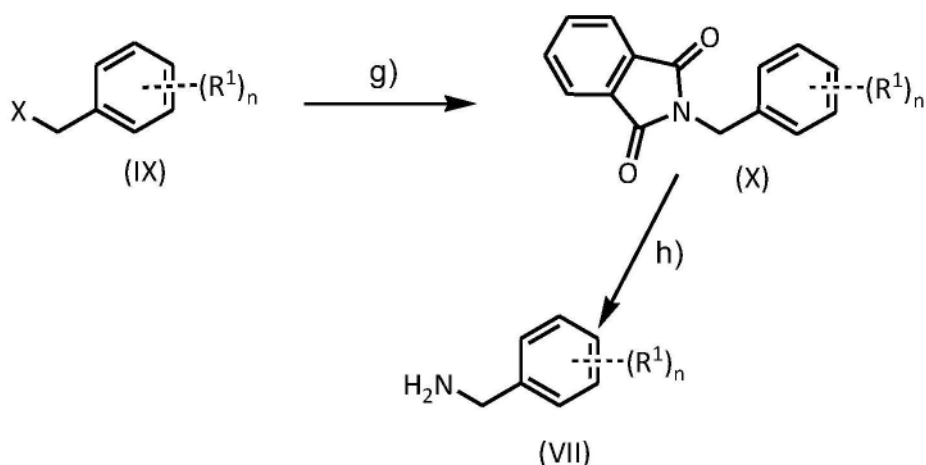
[0129] 试剂和条件:

[0130] 阶段f) THF, 0℃至RT; 或CH₂Cl₂, DIPEA, 0℃至RT。

[0131] 其它式(VII)胺不能购买获得,可以如方案4所示以数个步骤制备。

[0132] 如下文方案4中所述,由其中X是卤素原子的式(IX)化合物合成了式(VII)化合物。

[0133] 方案4



[0134]

[0135] 试剂和条件:

[0136] X: 卤素原子阶段g) 邻苯二甲酰亚胺, K_2CO_3 , DMF $50^\circ C$,[0137] 阶段h) $N_2H_4 \cdot H_2O$, EtOH, 回流。

[0138] 式(VII)胺采用Gabriel合成的经典条件制备;其涉及邻苯二甲酰亚胺的共轭碱和烷基卤(IX)的反应,随后用肼除去邻苯二甲酰基(phthaloyl),得到伯胺(VII)。

[0139] 缩写

[0140] 在本申请中使用以下缩写,并具有相应的定义:

[0141] AcOH: 乙酸

[0142] ACVR2B: 激活素A受体, IIB型

[0143] ALKn: 激活素受体样激酶n

[0144] ATP: 三磷酸腺苷

[0145] Boc_2O : 焦碳酸叔丁基酯

[0146] Clint: 固有清除率

[0147] DIPEA: N,N-二异丙基乙胺

[0148] DMA: 二甲基乙酰胺

[0149] DMAP: 4-二甲氨基吡啶

[0150] DME: 二甲氧基乙烷

[0151] DMF: 二甲基甲酰胺

[0152] DMSO: 二甲基亚砷

[0153] Et_3N : 三乙胺

[0154] EtOAc: 乙酸乙酯

[0155] EtOH: 乙醇

[0156] FBS: 胎牛血清

[0157] 1H -NMR: 质子核磁共振[0158] K_2EDTA : 乙二胺四乙酸二钾盐

[0159] KOtBu: 叔丁醇钾

[0160] LC: 液相色谱法

[0161] LiHMDS: 双(三甲基甲硅烷基)氨基锂

[0162] LLOQ: 定量下限

- [0163] MeCN:乙腈
- [0164] MeOH:甲醇
- [0165] MS:质谱法
- [0166] $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$:一水合肼
- [0167] NaCMC:羧甲基纤维素钠
- [0168] NMP:N-甲基-2-吡咯烷酮
- [0169] PCy_3 :三环己基膦
- [0170] $\text{Pd}(\text{OAc})_2$:醋酸钯(II)
- [0171] Pd/C:披钯碳
- [0172] PPh_3 :三苯膦
- [0173] Rt:保留时间
- [0174] RT:室温
- [0175] $\text{TGF}\beta$:转化生长因子- β
- [0176] THF:四氢呋喃
- [0177] THF:EtOH:四氢呋喃:乙醇
- [0178] UPLC:超高效液相色谱法
- [0179] UV:紫外
- [0180] 药理活性
- [0181] 体外酶测定:TGF β R-1激酶活性的抑制
- [0182] 在白色低边缘384-微孔板(Corning 3572)中使用ADP-Glo激酶测定试剂盒(Promega V9101)和TGF β R-1激酶系统(Promega V4092)进行了人TGF β R-1抑制实验。使用试剂盒提供的反应缓冲液作为测定缓冲液,以10 μL /孔的终体积添加了测试化合物和标准Galunisertib(Cayman 15312)、50ng/孔TGF β R-1激酶和50 μM ATP。将反应混合物于室温轻轻振摇孵育120分钟,在孵育后加入10 μL ADP-Glo试剂,于室温轻轻振摇孵育40分钟。加入20 μL 激酶检测试剂,将板于室温轻轻振摇孵育30分钟。在Perkin Elmer EnSpire Multimode读板器中测量发光度(1000ms)。
- [0183] 结果
- [0184] 表1显示了下文描述的本发明的一些化合物的测定结果。
- [0185] 表1

[0186]

实施例	名称	IC ₅₀ 范围
1	<i>N</i> -苄基-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
2	<i>N</i> -(4-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
3	<i>N</i> -(4-氯苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
4	<i>N</i> -(4-溴苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
7	<i>N</i> -(4-甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
9	<i>N</i> -苄基-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
10	<i>N</i> -(3-甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
11	<i>N</i> -(3-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B

[0187]

12	<i>N</i> -(3-氯苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
13	<i>N</i> -(3-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
14	<i>N</i> -(2-甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
15	<i>N</i> -(2-甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
16	<i>N</i> -(2-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
17	<i>N</i> -(2-氟苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
18	<i>N</i> -苄基-2-(3-(6-乙基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
19	2-(3-(6-乙基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)- <i>N</i> -(2-甲基苄基)乙酰胺	A
20	<i>N</i> -(4-甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
21	<i>N</i> -(2-氯苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
22	<i>N</i> -(2-氯苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
23	<i>N</i> -(2,6-二氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
24	<i>N</i> -(2,6-二氟苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
25	<i>N</i> -(2,6-二甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
26	<i>N</i> -(2,6-二甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A

[0188]	27	<i>N</i> -(2-乙基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
	28	<i>N</i> -(2,6-二氯苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
	29	4-((2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺基)甲基)苯甲酸盐	B

[0189] 范围:

[0190] A: $IC_{50} = < 100 \text{ nM}$

[0191] B: $100 \text{ nM} < IC_{50} < 800 \text{ nM}$

[0192] 细胞内TGF- β 激酶活性 (ALK-5) 的测定

[0193] 在A549细胞系中进行了实验。在96孔微孔板 (Becton Dickinson 353072) 上, 将30000个细胞接种在补充有L-谷氨酰胺 (Sigma G7513)、青霉素/链霉素 (Invitrogen 11058) 和FBS (Sigma F9665) 的200 μ l培养基 (Sigma D6046) 中。16小时后, 将培养基更换为无血清培养基。将作为抑制剂配体的Galunisertib (Cayman CAY-15312) 和作为ALK-5激活剂的重组人TGF- β 2 (R&D Systems 302-B2-002) 添加到它们相应的孔中, 按照AlpahscreenAlphaLISA® SureFire® Ultra™ p-SMAD3 (Ser423/425) 试剂盒 (Perkin Elmer ALSU-PSM3-A500) 的指示进行孵育。

[0194] 结果

[0195] 表2显示了下文描述的本发明的一些化合物的测定结果。

[0196] 表2

[0197]	实施例	姓名	IC_{50} 范围
	1	<i>N</i> -苄基-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
	9	<i>N</i> -苄基-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
	15	<i>N</i> -(2-甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B

[0198]

19	2-(3-(6-乙基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)- <i>N</i> -(2-甲基苄基)乙酰胺	B
20	<i>N</i> -(4-甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
22	<i>N</i> -(2-氯苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
24	<i>N</i> -(2,6-二氟苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
26	<i>N</i> -(2,6-二甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B
27	<i>N</i> -(2-乙基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	A
28	<i>N</i> -(2,6-二氯苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1 <i>H</i> -吡唑-1-基)乙酰胺	B

[0199] 范围:

[0200] A: $IC_{50} < 100\text{nM}$ [0201] B: $100\text{nM} < IC_{50} < 500\text{nM}$

[0202] 从上表所述的结果可以看出,本发明的化合物是转化生长因子- β 受体I (TGF β RI/ALK5)的强效抑制剂。

[0203] 血浆药物动力学测定

[0204] 本研究的目的是考察本发明的一些化合物在雄性Sprague Dawley大鼠中单次口服施用后的血浆药物动力学。在该研究中,每种化合物使用三只大鼠。以5mg/kg通过口服途径给动物施用各化合物在0.5%吐温-80和99.5% NaCMC (0.5%w/v,在RO水中) 中的混悬液。在0.25、0.5、1、2、4、6、8、12和24小时(po),在每个时间点、在含有K₂EDTA溶液作为抗凝剂的标记微离心试管中从三只一组的大鼠中收集血液样本。将全血离心分离出血浆样品,在低于-70 $\pm$ 10 $^{\circ}$ C的温度储存直至进行生物分析。将所有样品通过乙腈蛋白质沉淀进行加工用于分析,并使用与目的相符的LC-MS/MS方法(LL0Q=1.01ng/mL) 进行分析。使用PhoenixWinNonlin® (版本7.0) 的非房室分析工具计算了药物动力学参数。

[0205] 下表3显示了由一些实施例获得的主要药物动力学参数。

[0206] 表3

路径	分析物	剂量 (mg/kg)	Tmax (hr)	Cmax (ng/mL)	AUClast (hr*ng/mL)	AUCinf (hr*ng/mL)
[0207]	实施例 9	5	0.25	62.83	27.02	27.7
	实施例 15	5	0.25	75.76	35.09	39.42
	实施例 22	5	0.33	19.97	13.69	15.34
	实施例 24	5	在 0.25 和 0.5 小时浓度仅可进行定量;不足以计算 PK 参数			

[0208] Cmax:指在给药时间点和最终观察时间点之间口服施用药物后获得的最大血浆药物浓度。

[0209] AUClast:指从施用时间点到最后观察到高于定量限的时间点的曲线下面积。

[0210] AUCinf:描述了药物的总暴露量。

[0211] Tmax:化合物或药物施用后达到最大血浆浓度的时间。

[0212] 从以上呈现的PK数据可以得出如下结论:本发明的化合物在口服施用后具有低的全身暴露。

[0213] 代谢稳定性测定

[0214] 在该测定中采用了来自Tebu-Xenotech的人和大鼠重组微粒体。它们含有0.5mg/ml的蛋白质。将以下量添加到96孔微孔板的各孔中。

[0215]	空白 (μl)	大鼠 (μl)	人 (μl)
磷酸盐缓冲液Na/K 50mM pH 7.4	295	301.3	301.3
MgCl ₂ 30mM	50	50	50
NADP 10mM	50	50	50
葡萄糖6-P 100mM	50	50	50
葡萄糖6-P DH 20U/ml	25	25	25
水	25	-	-
大鼠微粒体	-	18.7	-
人微粒体	-	-	18.7
测试化合物	5	5	5

[0216] 将板于37℃孵育,在0、10、20、40和60分钟时取75μL样品。将样品转移到微孔板中,加入75μl乙腈以灭活微粒体,加入30μl H₂O以改善色谱条件,保持在4℃。取样完成后,将板于15℃以46000g离心30分钟。取上清液,进样到UPLC-MS/MS中。

[0217] 固定相:反相Acquity UPLC®BEH C18 1.7μm(2.1mm x 50mm) (Waters)。流动相:A:0.1%甲酸;B:乙腈+0.1%甲酸。流量:0.6毫升/分钟。所用的色谱设备是UPLC QSM Waters Acquity。由UV峰面积计算了化合物浓度。响应在10ng/ml至0.3125ng/ml的范围呈线性。由在每个评估时间剩余化合物的对数计算了代谢稳定性。

[0218] 数据分析

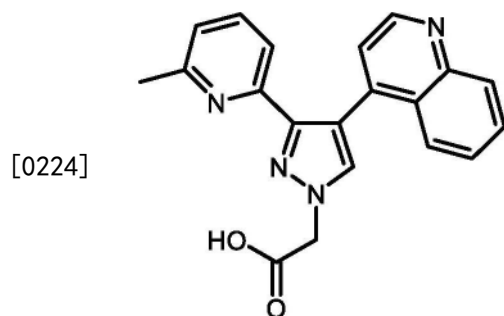
[0219] 使用GraphPad Prism®软件将数据拟合为单相指数衰减方程。将报告软件生成的半衰期($t_{1/2}$)。将使用公式计算固有清除率,其中k=衰减速率常数(min^{-1})。

$$[0220] \quad Cl_{int} = \frac{k \times \text{反应混合物体积}(\mu\text{L})}{\text{蛋白质含量}(\text{mg})}$$

实施例	大鼠		人	
	%残余(取样时间60 min)	Clint ($\mu\text{L}/\text{min} \cdot \text{mg}$ 蛋白质)	%残余(取样时间60 min)	Clint ($\mu\text{L}/\text{min} \cdot \text{mg}$ 蛋白质)
[0221]	20	381.1	0.01	215.6
	22	644.4	0.03	378.4
	24	359.9	0.05	307.3
	26	825.6	0.05	622.4
	27	600.5	0.53	505.0

[0222] 上文分析的实施例在肝微粒体测定中不稳定,并且在两种评价的种属中显示出高清除率。

[0223] 在代谢物鉴定研究中鉴定出化合物A。所述化合物是2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酸,具有下式:



[0225] ^1H NMR (300MHz, MeOD) δ 8.79 (d, $J=4.6\text{Hz}$, 1H), 8.42 (br s, 1H), 8.09-7.85 (m, 3H), 7.77-7.63 (m, 1H), 7.59-7.28 (m, 4H), 7.08-6.96 (m, 1H), 4.97 (s, 2H), 2.08 (s, 3H)。

[0226] HPLC-MS: R_t 13.025m/z 345.1 (MH^+)。

[0227] 化合物A被鉴定为实施例9、15、20、22、24和26等的主要代谢物。

[0228] 根据上述条件进行了化合物A对抗TGF β R-1的活性,显示出大于800nM的 IC_{50} 。还测定了细胞内TGF- β 激酶活性 (ALK-5),显示出大于5000nM的 IC_{50} 。

[0229] 由于其低的代谢稳定性,本发明的化合物在口服、局部或眼施用后具有低的全身暴露,因此它们特别适用于治疗疾病,例如胃肠疾病,例如炎性肠病,其中包括克罗恩病和溃疡性结肠炎,肝纤维化和癌症,特别是胃癌、食道癌和结肠直肠癌;纤维化皮肤病,例如硬皮病、肾源性纤维化皮肤病、混合性结缔组织病、硬化性粘液水肿、硬化病和嗜酸性筋膜炎;纤维化眼疾病,例如干眼症、年龄相关性黄斑变性、角膜和结膜瘢痕、白内障后纤维化、增殖性玻璃体视网膜病变和增殖性糖尿病性视网膜病变。

[0230] 因此,本发明的衍生物及其药学上可接受的盐以及包含这类化合物和/或其盐的药物组合物可用于治疗人体疾病的方法中,该方法包括给需要这类治疗的个体施用有效量的本发明的苯甲酰胺衍生物或其药学上可接受的盐。

[0231] 本发明还提供了药物组合物,其包含作为活性成分的至少一种式(I)苯甲酰胺衍

生物或其药学上可接受的盐以及其它治疗剂、药学上可接受的赋形剂如载体或稀释剂。活性成分可占组合物重量的0.001%至99%,优选0.01%至90%,这取决于制剂的性质以及应用前是否进一步稀释。

[0232] 优选地,式(I)化合物、其药学上可接受的盐和组合物被制成适合口服、局部、眼、直肠或经皮施用的形式。

[0233] 与活性化合物或该化合物的盐混合以形成本发明的组合物的药学上可接受的赋形剂本身是熟知的,实际使用的赋形剂尤其取决于施用组合物的预期方法。

[0234] 本发明的式(I)化合物、其药学上可接受的盐和组合物优选适于注射和口服施用。在这种情况下,用于口服施用的组合物可以采取片剂、缓释片剂、舌下片剂、胶囊剂或液体制剂的形式,例如混合物、酏剂、糖浆剂或混悬剂,均含有本发明的化合物;这类制剂可通过本领域熟知的方法制备。

[0235] 可用于制备组合物的稀释剂包括与活性成分相容的那些液体和固体稀释剂以及如果需要的话还包括着色剂或矫味剂。片剂或胶囊剂可以方便地含有2至500mg的活性成分或其等量的盐。

[0236] 适合口服使用的液体组合物可以是溶液或混悬液的形式。溶液可以是活性化合物的可溶性盐或其它衍生物的水溶液,例如与蔗糖组合以形成糖浆剂。混悬液可包含本发明的不溶性活性化合物或其药学上可接受的盐与水的联合以及助悬剂或矫味剂。

[0237] 用于肠胃外注射的组合物可以由可溶性盐制备,其可以冷冻干燥或不冷冻干燥,并且可以溶解在无热原水性介质或其它适当的肠胃外注射液体中。

[0238] 有效剂量通常在每天2-2000mg活性成分的范围。每日剂量可以在每天一次或多次治疗、优选1至4次治疗中施用。

[0239] 本发明将通过以下实施例进一步说明。以下以说明的方式给出,并且不以任何方式限制本发明的范围。本发明的化合物的合成通过以下实施例进行说明,包括中间体的制备,它们不以任何方式限制本发明的范围。

实施例

[0240] 通述. 试剂、溶剂和起始产品从商业来源获得。术语“浓缩”指使用Büchi旋转蒸发器进行真空蒸发。当指出时,反应产物通过硅胶(40-63 μ m)“快速”色谱法、用指出的溶剂系统纯化。光谱数据在Varian Mercury 300光谱仪中测量。HPLC-MS在配备有Alliance 2795分离模块、UV-Vis W 2996检测器和micromass ZQ200的Waters仪器上进行。

[0241] 中间体1: 6-甲基吡啶甲酸乙酯

[0242] 向6-甲基吡啶甲酸(2.0g, 14.58mmol)在乙醇(50mL)中的溶液中加入硫酸(1.2mL),将混合物加热回流22小时,然后浓缩至干。将残余物溶解在水(50mL)中,加入碳酸氢钠直至pH8-9,将其用乙酸乙酯(3x40mL)萃取。合并的有机层用硫酸钠干燥并浓缩,得到黄色油状物(1.88g, 78%)。

[0243] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ = 7.95 (d, J = 7.7Hz, 1H), 7.72 (t, J = 7.7Hz, 1H), 7.34 (d, J = 7.7Hz, 1H), 4.49 (q, J = 7.1Hz, 2H), 2.67 (s, 3H), 1.44 (t, J = 7.1Hz, 3H)。

[0244] HPLC-MS: R_t 8.258m/z 166.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0245] 中间体1: 1-(6-甲基吡啶-2-基)-2-(喹啉-4-基)乙烷-1-酮

[0246] 向冷却至-60℃的勒皮啉(lepidine) (0.500g, 3.49mmol) 在四氢呋喃(10mL) 中的溶液中加入双(三甲基甲硅烷基) 氨基锂(10.5mL, 10.47mmol, 1M四氢呋喃溶液), 反应混合物低温搅拌30分钟。加入6-甲基吡啶甲酸乙酯(0.634g, 3.83mmol) 的四氢呋喃(5mL) 溶液, 将反应混合物搅拌过夜, 使温度达到-10℃。用氯化铵(饱和水溶液) 淬灭反应混合物, 真空除去溶剂。将残余物溶解在乙酸乙酯(60mL) 中, 用氯化铵(2×50mL, 饱和水溶液) 洗涤。有机层用硫酸钠干燥并浓缩。反应产物通过硅胶快速色谱法纯化(40% EtOAc/己烷), 得到橙色油状物(0.423g, 46%)。

[0247] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ =8.84 (d, J =4.4Hz, 1H), 8.138-8.045 (m, 2H), 7.85 (d, J =7.6Hz, 1H), 7.74-7.66 (m, 2H), 7.56-7.51 (m, 1H), 7.41 (d, J =4.4Hz, 1H), 7.36 (dd, J =7.6, 0.5Hz, 1H), 5.02 (s, 2H), 2.67 (s, 3H)。

[0248] HPLC-MS: Rt 10.077m/z 262.7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0249] 中间体2: 1-(6-乙基吡啶-2-基)-2-(喹啉-4-基) 乙烷-1-酮

[0250] HPLC-MS: Rt 10.643m/z 276.7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0251] 中间体3: 4-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-基) 喹啉

[0252] 向1-(6-甲基吡啶-2-基)-2-(喹啉-4-基) 乙烷-1-酮(0.420g, 1.60mmol) 在二甲基甲酰胺(5mL) 中的溶液中加入乙酸(0.330mL, 5.76mmol) 和N,N-二甲基甲酰胺-二甲基缩醛(0.640mL, 4.80mmol), 将反应混合物于室温搅拌1小时。加入一水合肼(1.75mL, 35.84mmol), 将溶液在50℃加热1小时。冷却的反应混合物用水(30mL) 稀释, 用乙酸乙酯(30mL) 萃取。有机层用水(20mL) 和盐水(2x20mL) 洗涤, 经硫酸钠干燥并浓缩。粗固体从乙腈中重结晶, 得到黄色固体(0.335g, 73%)。

[0253] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ =13.63 (br s, 1H), 8.81 (br s, 1H), 8.04 (d, J =9.6Hz, 1H), 7.73-7.40 (m, 7H), 7.02 (m, 1H), 2.50 (s, 3H)。

[0254] HPLC-MS: Rt 9.100m/z 286.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0255] 中间体4: 4-(3-(6-乙基吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-基) 喹啉 $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ =8.99 (d, J =4.4Hz, 1H), 8.24 (d, J =8.4Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.89-7.68 (m, 3H), 7.55-7.41 (m, 2H), 7.30-7.25 (m, 1H), 7.03 (d, J =7.8Hz, 1H), 6.66 (d, J =7.8Hz, 1H), 2.84 (q, J =7.6Hz, 2H), 1.31 (t, J =7.6Hz, 3H)。

[0256] HPLC-MS: Rt 9.616m/z 301.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0257] 中间体5: (2-乙基苄基) 甲胺

[0258] 向借助外部冰/水浴冷却至5℃的2-乙基苄腈(0.20g, 1.52mmol) 在THF(8mL) 中的溶液中分批加入 LiAlH_4 (0.28mg, 7.62mmol)。使反应混合物达到室温并搅拌21小时。向混合物中加入 H_2O (3mL) 和NaOH(1mL, 36%水溶液) 并搅拌5分钟。通过硅藻土用EtOAc(15mL) 洗涤过滤混悬液。将母液浓缩至干, 得到粉红色油状物(140mg)。产物未经另外纯化用于下一步骤。

[0259] 中间体7: 4-((1,3-二氧代异吲哚啉-2-基) 甲基) 苯甲酸叔丁酯

[0260] 向邻苯二甲酰亚胺(0.19g, 1.32mmol) 和碳酸钾(0.22g, 1.59mmol) 在N,N-二甲基甲酰胺(4mL) 中的混悬液中加入4-(氯甲基) 苯甲酸叔丁酯(0.30g, 1.32mmol), 将混合物在50℃加热20小时。将反应混合物在室温下冷却, 用水(30mL) 和盐水(20mL) 稀释, 用乙酸乙酯(2x15mL) 萃取。合并的有机萃取物用硫酸钠干燥并浓缩, 得到白色固体(0.42g, 95%)。

[0261] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) : $\delta=7.93$ (d, $J=8.2\text{Hz}$, 2H) , 7.85 (dd, $J=5.3, 2.9\text{Hz}$, 2H) , 7.72 (dd, $J=5.3, 2.9\text{Hz}$, 2H) , 7.44 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 2H) , 4.88 (s, 2H) , 1.56 (s, 9H) .

[0262] 中间体8:4-(氨基甲基)苯甲酸叔丁酯

[0263] 向4-((1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)甲基)苯甲酸叔丁酯(0.41g, 1.23mmol)在乙醇(5mL)中的混悬液中加入一水合肼(0.12g, 2.46mmol), 混合物在剧烈搅拌下回流2小时。将反应混合物冷却至室温, 加入盐酸溶液6M(22%), 将溶液加热另外5分钟。添加水(10mL)、乙酸乙酯(10mL)和10%盐酸水溶液以达到pH1。分离各层, 有机层用10%盐酸水溶液($2\times 5\text{mL}$)萃取。将合并的水性萃取物用24%氢氧化钠水溶液碱化, 用乙酸乙酯($2\times 10\text{mL}$)萃取。合并的有机萃取物用硫酸钠干燥并浓缩, 得到浅黄色油状物(0.12g, 48%)。

[0264] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) : $\delta=7.84$ (d, $J=8.2\text{Hz}$, 2H) , 7.24 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 2H) , 3.81 (s, 2H) , 1.48 (s, 9H) .

[0265] 中间体6:N-苄基-2-溴乙酰胺

[0266] 向借助外部冰/水浴冷却至 5°C 的苄胺(1.5g, 14.00mmol)在THF(15mL)中的溶液中加入溴乙酰溴(1.46mL, 16.80mmol), 将反应混合物搅拌22小时, 使其达到室温。过滤所得混悬液, 将母液浓缩至干。粗残余物通过硅胶快速色谱法纯化(30% $\rightarrow$ 50% EtOAc/己烷), 得到白色固体(1.33g, 42%)。

[0267] HPLC-MS: Rt 8.327m/z 226.0-228.1 $[\text{M-H}]^-$ 。

[0268] 按照对中间体9所述的方法制备了从中间体10到中间体26的以下中间体。

[0269] 中间体7:2-溴-N-(4-氟苄基)乙酰胺

[0270] HPLC-MS: Rt 8.608m/z 244.0-246.0 $[\text{M-H}]^-$ 。

[0271] 中间体8:2-溴-N-(4-氯苄基)乙酰胺

[0272] HPLC-MS: Rt 9.273m/z 262.2 $[\text{M-H}]^-$ 。

[0273] 中间体9:2-溴-N-(4-溴苄基)乙酰胺

[0274] 该中间体未经另外纯化用于下一步骤。

[0275] 中间体10:2-溴-N-(4-甲氧基苄基)乙酰胺

[0276] HPLC-MS: Rt 6.125m/z 258.1-259.9 $[\text{M+H}]^+$ 。

[0277] 中间体11:2-溴-N-(4-甲基苄基)乙酰胺

[0278] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6) : $\delta=7.14$ (s, 4H) , 4.24 (d, $J=5.9\text{Hz}$, 2H) , 3.94 (s, 2H) , 2.27 (s, 3H) .

[0279] HPLC-MS: Rt 9.098m/z 242.1-244.0 $[\text{M+H}]^+$ 。

[0280] 中间体12:2-溴-N-(4-(叔丁基)苄基)乙酰胺

[0281] HPLC-MS: Rt 10.406m/z 282.0-284.2 $[\text{M-H}]^-$ 。

[0282] 中间体16:2-溴-N-(3-甲基苄基)乙酰胺

[0283] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6) : $\delta=7.24$ - 7.19 (m, 1H) , 7.08 - 7.03 (m, 3H) , 4.25 (d, $J=5.9\text{Hz}$, 2H) , 3.91 (s, 2H) , 2.29 (s, 3H) .

[0284] 中间体17:2-溴-N-(3-氟苄基)乙酰胺

[0285] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6) : $\delta=8.83$ (br s, 1H) , 7.41 - 7.33 (m, 1H) , 7.12 - 7.03 (m, 3H) , 4.31 (d, $J=6.0\text{Hz}$, 2H) , 3.92 (s, 2H) .

[0286] HPLC-MS: Rt 8.642m/z 244.0-246.1 $[\text{M-H}]^-$ 。

[0287] 中间体18:2-溴-N-(3-氯苄基)乙酰胺

[0288] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): δ =8.83 (br s, 1H), 7.51-7.08 (m, 4H), 4.30 (d, J=6.0Hz, 2H), 3.92 (s, 2H).

[0289] HPLC-MS: Rt 9.266m/z 260.0-262.1 [M-H] $^-$.

[0290] 中间体19:2-溴-N-(3-氰基苄基)乙酰胺

[0291] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): δ =7.78-7.66 (m, 2H), 7.66-7.45 (m, 2H), 4.35 (d, J=6.0Hz, 2H), 3.94 (s, 2H).

[0292] HPLC-MS: Rt 8.018m/z 251.0-253.1 [M-H] $^-$.

[0293] 中间体20:2-溴-N-(2-甲基苄基)乙酰胺

[0294] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ =7.26-7.15 (m, 4H), 4.48 (d, J=5.5Hz, 2H), 3.93 (s, 2H), 2.34 (s, 3H).

[0295] HPLC-MS: Rt 9.004m/z 240.0 [M-H] $^-$.

[0296] 中间体21:2-溴-N-(2-氟苄基)乙酰胺

[0297] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ =7.39-7.30 (m, 2H), 7.20-7.01 (m, 2H), 6.87 (s, 1H), 4.55 (d, J=6.0Hz, 2H), 3.94 (s, 2H).

[0298] HPLC-MS: Rt 8.532m/z 244.0-246.1 [M-H] $^-$.

[0299] 中间体22:2-溴-N-(2-氯苄基)乙酰胺

[0300] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): δ =8.44 (br s, 1H), 7.25-6.79 (m, 4H), 3.98 (d, J=5.8Hz, 2H), 3.56 (s, 1H).

[0301] HPLC-MS: Rt 9.097m/z 264.0 [M-H] $^-$.

[0302] 中间体23:2-溴-N-(2,6-二氟苄基)乙酰胺

[0303] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): δ =8.70 (br s, 1H), 7.55-7.29 (m, 1H), 7.16-7.07 (m, 2H), 4.34 (d, J=5.3Hz, 2H), 3.84 (s, 2H).

[0304] 中间体24:2-溴-N-(2-氯苄基)乙酰胺

[0305] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): δ =8.34 (br s, 1H), 7.13-7.02 (m, 3H), 4.29 (d, J=4.8Hz, 2H), 3.84 (s, 2H), 2.30 (s, 6H).

[0306] HPLC-MS: Rt 9.542m/z 256.0 [M-H] $^-$.

[0307] 中间体25:2-溴-N-(2-乙基苄基)乙酰胺

[0308] HPLC-MS: Rt 9.526m/z 253.9-256.0 [M-H] $^-$.

[0309] 中间体136:2-溴-N-(2,6-二氯苄基)乙酰胺

[0310] HPLC-MS: Rt 9.466m/z 294.0 [M-H] $^-$.

[0311] 中间体27:2-溴-N-(4-氰基苄基)乙酰胺

[0312] 向借助外部冰/水浴冷却至5℃的4-(氨基甲基)苄腈盐酸盐(0.150g, 0.890mmol)在二氯甲烷(4mL)中的混悬液中加入 Et_3N (0.150mL, 1.067mmol)和溴乙酰溴(0.082mL, 0.934mmol)。将反应混合物搅拌30分钟,使其达到室温,用二氯甲烷(10mL)稀释,用 H_2O (15mL)洗涤。水层用二氯甲烷(10mL)萃取,合并的有机萃取物用硫酸钠干燥并减压浓缩。残余物通过硅胶快速色谱法纯化(50%EtOAc/己烷),得到浅褐色固体(0.118g, 52%)。

[0313] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): δ =8.89 (br s, 1H), 7.97-7.64 (m, 2H), 7.59-7.26 (m, 2H), 4.36 (d, J=6.0Hz, 2H), 3.91 (s, 2H).

[0314] 按照对中间体27所述的方法制备了以下中间体28。

[0315] 中间体28:4-(2-溴乙酰氨基)甲基)苯甲酸叔丁酯

[0316] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): δ =8.87 (m, 1H), 7.85 (d, J =8.5Hz, 2H), 7.36 (d, J =8.5Hz, 2H), 4.35 (d, J =6.1Hz, 2H), 3.92 (s, 2H), 1.53 (s, 9H)。

[0317] 中间体29:4-(2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰氨基)甲基)苯甲酸叔丁酯

[0318] 按照实施例1所述的方法制备了该中间体。

[0319] HPLC: Rt 18.982, 99.36%。

[0320] 实施例

[0321] 实施例1: N-苄基-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0322] 向N-苄基-2-溴乙酰胺(0.100g, 0.441mmol)在乙腈(2mL)中的溶液中加入 K_2CO_3 (0.076g, 0.550mmol)和4-(3-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)喹啉(0.100g, 0.367mmol), 将反应混合物回流6小时。加入N-苄基-2-溴乙酰胺(0.017g, 0.073mmol), 将混合物回流另外1小时, 使其达到室温。加入 H_2O (10mL), 用EtOAc(3x5mL)萃取。合并的有机萃取物经硫酸钠干燥并减压浓缩。残余物通过C18色谱法用Combiflash系统(5 $\rightarrow$ 100% $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}:\text{MeCN}$ 1:1)和通过硅胶快速色谱法(3% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$)纯化, 得到白色固体(0.080g, 52%)。

[0323] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3): δ =8.89 (d, J =4.4Hz, 1H), 8.42 (d, J =4.4, Hz, 1H), 8.16 (d, J =8.4Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.72-7.66 (m, 2H), 7.45 (td, J =7.8, 1.8Hz, 1H), 7.37-7.34 (m, 1H), 7.32-7.21 (m, 7H), 7.10 (ddd, J =7.8, 4.4, 1.8Hz, 1H), 6.87 (br a, 1H), 5.05 (s, 2H), 4.52 (d, J =5.8Hz, 2H)。

[0324] HPLC-MS: Rt 16.753m/z 420.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0325] 采用对实施例1所述的方法, 由相应的4-(3-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)喹啉衍生物合成了以下实施例2-4。

[0326] 实施例2: N-(4-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺 $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): 8.98-8.65 (m, 2H), 8.19-7.95 (m, 3H), 7.87-7.58 (m, 4H), 7.51-7.25 (m, 4H), 7.26-7.05 (m, 3H), 5.06 (s, 2H), 4.36 (d, J =5.8Hz, 2H)。

[0327] HPLC-MS: Rt 16.989m/z 438.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0328] 实施例3: N-(4-氯苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺 $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): δ =8.99-8.62 (m, 2H), 8.22-7.89 (m, 3H), 7.88-7.50 (m, 4H), 7.53-7.22 (m, 6H), 7.17-7.13 (m, 1H), 5.06 (s, 2H), 4.36 (d, J =5.8Hz, 2H)。

[0329] HPLC-MS: Rt 17.839m/z 454.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0330] 实施例4: N-(4-溴苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺 $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): δ =8.84-8.80 (m, 2H), 8.18-7.93 (m, 3H), 7.88-7.60 (m, 4H), 7.60-7.20 (m, 6H), 7.18-7.14 (m, 1H), 5.06 (s, 2H), 4.34 (d, J =5.9Hz, 2H)。

[0331] HPLC-MS: Rt 18.057m/z 498.0-500.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0332] 实施例5: N-(4-氰基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0333] 向借助外部冰/水浴冷却至5 $^{\circ}\text{C}$ 的4-(3-(吡啶-2-基)-1H-吡唑-4-基)喹啉(0.060g, 0.220mmol)在四氢呋喃(3mL)中的混悬液中加入60%氢化钠(0.012g,

0.308mmol),将混合物在相同温度下搅拌30分钟。滴加N-(4-氰基苄基)-2-溴乙酰胺(0.078g,0.308mmol)在四氢呋喃(1mL)和二甲基甲酰胺(0.3mL)的混合物中的溶液,将混合物搅拌40分钟。加入其它部分的N-(4-氰基苄基)-2-溴乙酰胺(0.011g,0.048mmol),再搅拌1.5小时。将反应混合物用水(10mL)稀释,用EtOAc(3x10mL)萃取。合并的有机层用硫酸钠干燥并减压浓缩。将残余物通过硅胶快速色谱法(2→4→5% MeOH/CH₂Cl₂)和通过使用Combiflash系统(5→100% H₂O/MeCN)的C18色谱法纯化,得到白色固体(0.016g,16%)。

[0334] ¹H-NMR(500MHz,DMSO-d₆):δ=8.89(t,J=6.0Hz,1H),8.83(dd,J=4.4,1.1Hz,1H),8.16-8.07(m,2H),8.03(d,J=8.4Hz,1H),7.85-7.61(m,5H),7.53(d,J=7.9Hz,2H),7.44-7.36(m,1H),7.32(dd,J=4.4,1.0Hz,1H),7.20-7.12(m,1H),5.10(s,2H),4.47(d,J=6.0Hz,2H)。

[0335] HPLC-MS:Rt 16.091m/z 445.1[M+H]⁺。

[0336] 采用对实施例5所述的方法合成了以下实施例6-29。

[0337] 实施例6:N-(4-甲氧基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺¹H-NMR(500MHz,DMSO-d₆):δ=8.84(d,J=4.5Hz,1H),8.73(t,J=5.9Hz,1H),8.15-8.06(m,2H),8.03(d,J=8.6Hz,1H),7.82-7.65(m,4H),7.41-7.12(m,5H),6.93-6.87(m,2H),5.04(s,2H),4.30(d,J=5.8Hz,2H),3.73(s,3H)。

[0338] HPLC-MS:Rt 17.709m/z 450.1[M+H]⁺。

[0339] 实施例7:N-(4-甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺¹H-NMR(500MHz,DMSO-d₆):δ=8.84(d,J=4.4Hz,1H),8.74(t,J=5.9Hz,1H),8.13-8.07(m,2H),8.03(d,J=9.1Hz,1H),7.83-7.65(m,4H),7.41(ddd,J=8.2,6.8,1.3Hz,1H),7.33(d,J=4.4Hz,1H),7.24-7.10(m,5H),5.05(s,2H),4.33(d,J=5.8Hz,2H),2.28(s,3H)。

[0340] HPLC-MS:Rt 17.574m/z 434.1[M+H]⁺。

[0341] 实施例8:N-(4-(叔丁基)苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0342] ¹H-NMR(500MHz,DMSO-d₆):δ=8.83(d,J=4.4Hz,1H),8.74(t,J=5.8Hz,1H),8.10-8.07(m,2H),8.03(d,J=8.4Hz,1H),7.84-7.61(m,4H),7.40(t,J=7.6Hz,1H),7.38-7.29(m,3H),7.25(d,J=8.2Hz,2H),7.20-7.10(m,1H),5.04(s,2H),4.32(d,J=5.8Hz,2H),1.26(s,9H)。

[0343] HPLC-MS:Rt 19.625m/z 476.2[M+H]⁺。

[0344] 实施例9:N-苄基-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺¹H-NMR(300MHz,DMSO-d₆):δ=8.84(d,J=4.5Hz,1H),8.81-8.75(m,1H),8.11(d,J=1.2Hz,1H),8.03(d,J=8.1Hz,1H),7.79-7.45(m,4H),7.45-7.21(m,7H),6.98(d,J=7.5Hz,1H),5.06(s,2H),4.39(d,J=5.7Hz,2H),1.83(s,3H)。HPLC-MS:Rt 17.541m/z 434.1[M+H]⁺。

[0345] 实施例10:N-(3-甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺¹H-NMR(300MHz,DMSO-d₆):δ=8.90-8.62(m,2H),8.19-7.89(m,3H),7.88-7.53(m,4H),7.51-6.90(m,7H),5.06(s,2H),4.34(d,J=5.7Hz,2H),2.27(s,3H)。

[0346] HPLC-MS:Rt 17.625m/z 433.9[M+H]⁺。

[0347] 实施例11:N-(3-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ =8.83(d, J=4.3Hz, 2H), 8.13(s, 1H), 8.10(d, J=5.2Hz, 1H), 8.03(d, J=8.4Hz, 1H), 7.84-7.65(m, 4H), 7.48-7.27(m, 3H), 7.22-7.02(m, 4H), 5.08(s, 2H), 4.40(d, J=5.9Hz, 2H) .

[0348] HPLC-MS:Rt 16.970m/z 438.0[M+H]⁺.

[0349] 实施例12:N-(3-氯苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ =8.86-8.82(m, 2H), 8.12(s, 1H), 8.09(d, J=5.1Hz, 1H), 8.03(d, J=8.4Hz, 1H), 7.88-7.61(m, 4H), 7.48-7.23(m, 6H), 7.18-7.12(m, 1H), 5.08(s, 2H), 4.39(d, J=5.8Hz, 2H) .

[0350] HPLC-MS:Rt 17.747m/z 454.1[M+H]⁺.

[0351] 实施例13:N-(3-氰基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ =9.03-8.70(m, 2H), 8.14(d, J=1.7Hz, 1H), 8.09(d, J=4.9Hz, 1H), 8.04(d, J=8.3Hz, 1H), 7.86-7.63(m, 7H), 7.56(t, J=7.6Hz, 1H), 7.42(t, J=7.6Hz, 1H), 7.35(dd, J=4.9, 1.7Hz, 1H), 7.16(dd, J=6.9, 5.0Hz, 1H), 5.10(s, 2H), 4.44(d, J=5.9Hz, 2H) .

[0352] HPLC-MS:Rt 16.152m/z 445.1[M+H]⁺.

[0353] 实施例14:N-(2-甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ =8.85-8.82(m, 1H), 8.68(br s, 1H), 8.18-7.95(m, 3H), 7.88-7.60(m, 4H), 7.49-7.08(m, 7H), 5.06(s, 2H), 4.35(d, J=5.4Hz, 2H), 2.30(s, 3H) .

[0354] HPLC-MS:Rt 17.417m/z 434.1[M+H]⁺.

[0355] 实施例15:N-(2-甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0356] ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ =8.84(d, J=4.5Hz, 1H), 8.68(br s, 1H), 8.12(s, 1H), 8.03(d, J=8.4Hz, 1H), 7.78-7.23(m, 7H), 7.19(br s, 3H), 6.98(d, J=7.5Hz, 1H), 5.06(s, 2H), 4.35(d, J=5.6Hz, 2H), 2.31(s, 3H), 1.82(s, 3H) .

[0357] HPLC-MS:Rt 18.202m/z 448.1[M+H]⁺.

[0358] 实施例16:N-(2-氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0359] ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ =8.93-8.70(m, 2H), 8.24-7.91(m, 3H), 7.91-7.60(m, 4H), 7.55-7.02(m, 7H), 5.07(s, 2H), 4.41(d, J=5.5Hz, 2H) .HPLC-MS:Rt 16.941m/z 438.1[M+H]⁺.

[0360] 实施例17:N-(2-氟苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0361] ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ =8.85-8.80(m, 2H), 8.11(s, 1H), 8.03(d, J=8.4Hz, 1H), 7.78-7.11(m, 10H), 6.98(d, J=7.5Hz, 1H), 5.07(s, 2H), 4.42(d, J=5.6Hz, 2H), 1.83(s, 3H) .

[0362] HPLC-MS:Rt 17.628m/z 452.0[M+H]⁺.

[0363] 实施例18:N-苄基-2-(3-(6-乙基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0364] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): $\delta=8.85$ (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 8.78 (t, $J=5.9\text{Hz}$, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.02 (d, $J=9.3\text{Hz}$, 1H), $7.72-7.62$ (m, 4H), $7.42-7.16$ (m, 7H), 6.95 (dd, $J=6.7$, 2.0Hz , 1H), 5.07 (s, 2H), 4.39 (d, $J=5.8\text{Hz}$, 2H), 2.10 (q, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 0.28 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 3H).

[0365] HPLC-MS: Rt 18.386m/z 448.1 [M+H] $^+$.

[0366] 实施例19: 2-(3-(6-乙基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)-N-(2-甲基苄基)乙酰胺

[0367] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): $\delta=9.04$ (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 8.86 (t, $J=5.7\text{Hz}$, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.21 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), $7.92-7.77$ (m, 4H), $7.62-7.45$ (m, 3H), 7.38 (m, 3H), 7.14 (dd, $J=6.4$, 2.4Hz , 1H), 5.25 (s, 2H), 4.55 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.29 (q, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 0.46 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 3H).

[0368] HPLC-MS: Rt 19.102m/z 462.1 [M+H] $^+$.

[0369] 实施例20: N-(4-甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0370] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): $\delta=8.84$ (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 8.75 (t, $J=5.9\text{Hz}$, 1H), 8.11 (s, 1H), 8.03 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), $7.75-7.47$ (m, 4H), $7.44-7.31$ (m, 2H), $7.26-7.10$ (m, 4H), 6.98 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 5.05 (s, 2H), 4.33 (d, $J=5.8\text{Hz}$, 2H), 2.28 (s, 3H), 1.83 (s, 3H).

[0371] HPLC-MS: Rt 16.848m/z 448.1 [M+H] $^+$.

[0372] 实施例21: N-(2-氯苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺
 $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): $\delta=8.85-8.79$ (m, 1H), $8.18-8.06$ (m, 2H), 8.03 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), $7.88-7.62$ (m, 4H), $7.57-7.23$ (m, 6H), $7.24-7.06$ (m, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.44 (d, $J=5.7\text{Hz}$, 2H).

[0373] HPLC-MS: Rt 17.627m/z 454.0 [M+H] $^+$.

[0374] 实施例22: N-(2-氯苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0375] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): $\delta=8.89-8.73$ (m, 2H), 8.13 (s, 1H), 8.03 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), $7.77-7.26$ (m, 10H), 6.98 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 1H), 5.11 (s, 2H), 4.45 (d, $J=5.7\text{Hz}$, 2H), 1.83 (s, 3H).

[0376] HPLC-MS: Rt 18.273m/z 468.0 [M+H] $^+$.

[0377] 实施例23: N-(2,6-二氟苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0378] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): $\delta=8.83$ (d, $J=4.5\text{Hz}$, 1H), 8.77 (t, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), $8.15-7.96$ (m, 3H), $7.82-7.63$ (m, 4H), $7.50-7.34$ (m, 2H), 7.31 (d, $J=4.5\text{Hz}$, 1H), $7.22-7.04$ (m, 3H), 4.99 (s, 2H), 4.42 (d, $J=5.1\text{Hz}$, 2H).

[0379] HPLC-MS: Rt 16.731m/z 455.9 [M+H] $^+$.

[0380] 实施例24: N-(2,6-二氟苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0381] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6): $\delta=8.84$ (d, $J=4.4\text{Hz}$, 1H), 8.76 (t, $J=5.3\text{Hz}$, 1H), $8.11-7.97$ (m, 2H), $7.75-7.28$ (m, 7H), 7.13 (t, $J=7.8\text{Hz}$, 2H), 6.97 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 4.99

(s, 2H), 4.43 (d, J=5.3Hz, 2H), 1.83 (s, 3H) .

[0382] HPLC-MS: Rt 17.513m/z 470.0 [M+H]⁺.

[0383] 实施例25: N-(2,6-二甲基苄基)-2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0384] ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ=8.83 (d, J=4.4Hz, 1H), 8.43-8.39 (m, 2H), 8.16-8.06 (m, 2H), 8.03 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.81-7.63 (m, 4H), 7.48-7.35 (m, 1H), 7.32 (d, J=4.5Hz, 1H), 7.21-6.97 (m, 4H), 4.99 (s, 2H), 4.37 (d, J=4.8Hz, 2H), 2.35 (s, 6H) .

[0385] HPLC-MS: Rt 18.188m/z 448.1 [M+H]⁺.

[0386] 实施例26: N-(2,6-二甲基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0387] ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ=8.83 (d, J=4.4Hz, 1H), 8.40 (t, J=4.9Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 8.02 (dd, J=8.9, 1.3Hz, 1H), 7.77-7.27 (m, 6H), 7.18-6.92 (m, 4H), 4.98 (s, 2H), 4.37 (d, J=4.8Hz, 2H), 2.35 (s, 6H), 1.82 (s, 3H) .

[0388] HPLC-MS: Rt 18.911m/z 462.1 [M+H]⁺.

[0389] 实施例27: N-(2-乙基苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0390] ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ=8.84 (d, J=4.5Hz, 1H), 8.69 (t, J=5.6Hz, 1H), 8.11 (s, 1H), 8.03 (d, J=8.3Hz, 1H), 7.77-7.13 (m, 10H), 6.98 (d, J=7.5Hz, 1H), 5.05 (s, 2H), 4.39 (d, J=5.6Hz, 2H), 2.66 (q, J=7.5Hz, 2H), 1.17 (t, J=7.5Hz, 3H) .

[0391] HPLC-MS: Rt 18.940m/z 462.1 [M+H]⁺.

[0392] 实施例28: N-(2,6-二氯苄基)-2-(3-(6-甲基吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰胺

[0393] ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ=8.84 (d, J=4.5Hz, 1H), 8.61 (m, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.03 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.75-7.28 (m, 9H), 6.98 (d, J=7.5Hz, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.61 (d, J=4.6Hz, 2H), 1.83 (s, 3H) .

[0394] HPLC-MS: Rt 18.877m/z 502.1 [M+H]⁺.

[0395] 实施例29: 4-((2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰氨基)甲基)苯甲酸盐

[0396] 将4-((2-(3-(吡啶-2-基)-4-(喹啉-4-基)-1H-吡唑-1-基)乙酰氨基)甲基)苯甲酸叔丁酯(0.106g, 0.204mmol)在盐酸(9mL, 在二噁烷中的4M溶液)中的混悬液于80℃加热1小时。将反应物冷却并真空浓缩。将残余物通过C18色谱法用Combiflash系统(5→100% H₂O:MeCN)纯化, 得到白色固体(0.033g, 33%)。

[0397] ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ=9.04 (d, J=5.3Hz, 1H), 8.95 (m, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.21 (d, J=8.2Hz, 1H), 8.09 (d, J=4.1Hz, 1H), 7.92-7.79 (m, 5H), 7.63-7.57 (m, 2H), 7.45 (d, J=7.6Hz, 2H), 7.21 (m, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.45 (d, J=5.3Hz, 2H) .

[0398] HPLC-MS: Rt 13.067m/z 464.2 [M+H]⁺.